

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

LETALNI ALELI U EVOLUCIJI

LETHAL ALLELES IN EVOLUTION

SEMINARSKI RAD

Iva Podgorski

Preddiplomski studij molekularne biologije

(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: doc. dr. sc. Vlatka Zoldoš

Zagreb, 2010.

Sadržaj

UVOD	2
POVIJEST OTKRI A LETALNIH ALELA	3
VRSTE LETALNIH ALELA	6
Recesivni letalni geni.....	6
Dominantni letalni geni	6
Uvjetno letalni geni	6
Semiletalni ili subletalni geni	7
Sinteti ki letalni geni	7
U INAK LETALNIH ALELA NA EVOLUCIJSKE PROCESE.....	8
U inak letalnih alela u pojedinim vrstama	10
Letalni aleli u vinske mušice (<i>Drosophila melanogaster</i> M.)	10
Letalni aleli u ku nog miša (<i>Mus musculus</i> L.)	11
Letalni aleli u riba (<i>Lucania goodei</i> G. i <i>Danio rerio</i> H.).....	12
Povezanost letalnih alela s pojedinim kromosomima i mutacijama.....	13
Letalni aleli vezani za spolne kromosome	13
Povezanost letalnih alela s inverzijama	15
ZAKLJU AK	17
LITERATURA.....	18
SAŽETAK.....	20
SUMMARY	20

UVOD

Kada su otkriveni Mendelovi zakoni, genetičari su vjerovali da mutacije utječu samo na žive organizme mijenjajući i u njima neka genetička svojstva i tako uzrokuju i promjene na razini organizma. No, ubrzo je otkriveno da mutantni alel može uzrokovati i smrt, pa ako je mutirani gen esencijalan, to može rezultirati letalnim fenotipom.

Sam pojam „letalni“ odgovara promjenama u genomu organizma koje stvaraju efekte dovoljno jake da uzrokuju smrt. Ako je mutacija uzrokovana dominantnim letalnim alelom, i homozigot i heterozigot za taj alel će pokazati letalni fenotip. Dominantni letalni aleli uzrokuju smrt jedinke prije nego ona uspije dati potomstvo, pa se ti aleli eliminiraju iz populacije u istoj generaciji u kojoj su i nastali. Ako je mutacija uzrokovana recesivnim letalnim alelom, homozigot za taj alel će pokazati letalni fenotip, ali ne i heterozigot. Većina letalnih gena su recesivni. Letalni aleli mijenjaju Mendelov fenotipski omjer 3:1 u 2:1.

Istraživanja letalnih alela nude nove poglede na populacijsku genetiku. Njihova detekcija je lagana i precizna, a pojava u populacijama vrlo je česta, pošto im je raznolikost ogromna i obuhvaća stotine različitih gena. Istraživanjem letalnih gena moguće je otkriti principe osnovnih faktora koji imaju ulogu i na populacijsku genetiku, a to su prirodna selekcija, mutacijski pritisak i genetički drift (Dubinin, 1945).

Važno pitanje je zašto se letalni aleli uopće održavaju u populaciji kada bi trebali biti eliminirani prirodnom selekcijom? Postavlja se važno evolucijsko pitanje: na koji način se populacije prilagođavaju sa svojim genetičkim strukturama visokom riziku od heterozigotnosti za letalne alele i drugim mutacijama sa smrtnom posljedicom? Također, nije jasno da li su letalni aleli, pronađeni u različitim populacijama, proizašli od jedne mutacije koja se onda proširila migracijama, ili su ti aleli posljedica neovisnih događaja u odvojenim populacijama, te se stoga i očekuje da su ti aleli različiti (Bennett i sur., 1959). Brojna istraživanja provedena su kako bi se pronašao odgovor na ova pitanja, no na većinu njih još se uvijek ne može sa sigurnošću odgovoriti.

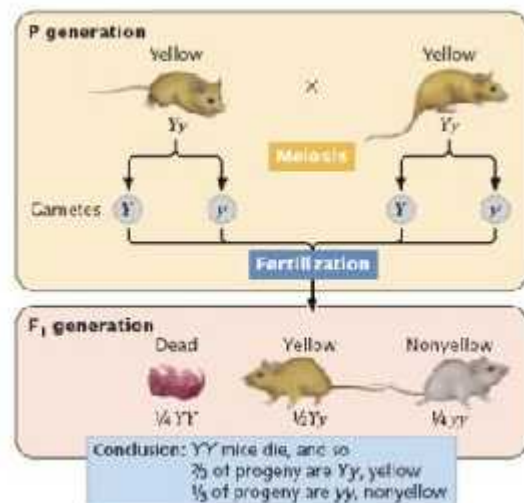
POVIJEST OTKRIĆA LETALNIH ALELA

Još davne 1905. godine Lucien Cuénot (Slika 1.), francuski biolog, primijetio je neuobičajene rezultate u genetici miša: umjesto očekivanog omjera fenotipova 3:1, Cuénot je uvijek primjećivao omjer 2:1, odnosno uvijek je nakon križanja dva žuta miša u potomstvu dobivao dva žuta i jednog sivog miša (Slika 2.). On je tada odredio da je žuta boja krzna dominantna fenotipska osobina i korištenjem testova križanja pokazao da su svi žuti miševi heterozigoti. No nikada nije uspio dobiti homozigotnog žutog miša.



Slika 1. Lucien Cuénot

(www.commonswikimedia.org)



Slika 2. Rezultati Cuénotovog križanja

(www.nature.com)

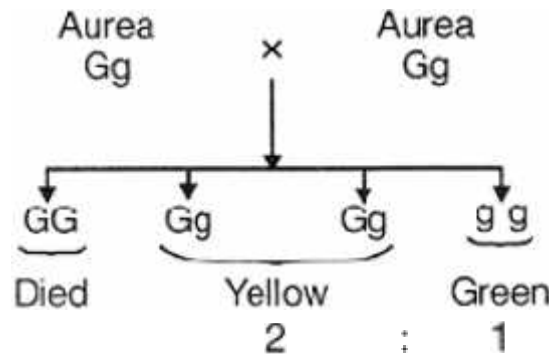
1907. godine Edwin Baur (Slika 3.), njemački genetičar i botaničar, započeo je svoj rad s biljkama zijevalicama (*Antirrhinum spp.*) i opisao stanje „aurea“ u kojem biljke umjesto zelenih listova imaju zlatno - žute listove. Kada je dvije takve biljke križao, Baur je primijetio omjer 2:1 zlatnih naspram zelenih biljaka (Slika 4.). Homozigotne „aurea“ biljke nisu imale normalan razvoj kloroplasta i uginule su za vrijeme embrionalnog razvoja ili kada su sadnice biljaka bile stare 2 – 3 dana. Drugim riječima, baš kao Cuénotov homozigotni miš,

homozigotne „aurea“ biljke se nisu mogle u potpunosti razviti, pa je cijela generacija potomaka uginula.



Slika 3. Edwin Baur

(www.mpiz-koeln.mpg.de)



Slika 4. *Antirrhinum* spp. – križanje „aurea“ biljaka

(www.google.hr/images)

Ubrzo nakon tih otkrića, 1910. godine, američki genetičari William Ernest Castle (Slika 5.) i Clarence Cook Little (Slika 6.) potvrdili su Cuénotov neuobičajene segregacijske omjere. Štoviše, dokazali su da su ne-Mendelovi omjeri Cuénotovih križanja rezultat uinka letalnog gena kojeg je ovaj istraživač u tim križanjima otkrio. Castle i Little uspjeli su to dokazati pokazavši da $\frac{1}{4}$ potomaka iz križanja heterozigota umire tijekom embrionalnog razvoja. Zbog toga Cuénot nikada nije mogao dobiti homozigotne žute miševe. Nadalje, utvrdivši embrionalnu letalnost, ili smrt kao novu fenotipsku klasu, klasični Mendelov omjer genotipova 1:2:1 se tada promijenio. Ovim primjerima je pokazano da letalni geni uzrokuju smrt organizma koji ih nosi (<http://www.nature.com/scitable/topicpage/mendelian-ratios-and-lethal-genes-557>).



Slika 5. William Ernest Castle

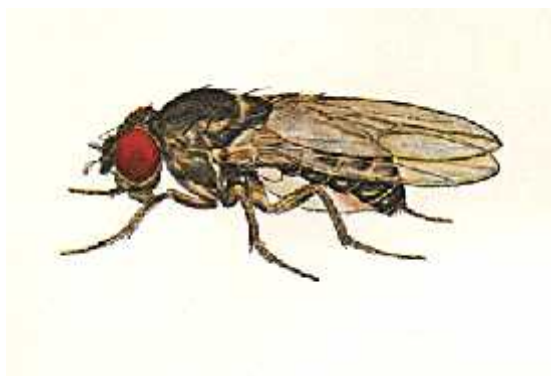
(www.nceas.ucsb.edu)



Slika 6. Clarence Cook Little

(www.nature.com)

Ruski biolog Nikolay Petrovich Dubinin (1900.-1975.) kasnije je otkrio da prirodne populacije vinske mušice (*Drosophila spp.*) sadrže ogroman broj autosomalnih letalnih heterozigotnih alela. To su potvrdili i Dobzhansky, Queal, Berg, Olenov, Muretov, Mazing, Gershenson i mnogi drugi istraživači. Američki zoolog Theodosius Dobzhansky istraživao je vijabilnost letalnih alela u heterozigota vrste *Drosophila pseudoobscura* M. (Slika 7.) i uočio je slabost slabog dominantnog efekta letalnih alela. Potvrdio je da heterozigoti preživljavaju unatoč prisutnosti tih alela u genotipu, no nije u potpunosti isključio mogućnost da je razlika u koncentraciji letalnih alela u populacijama iste vrste koje obitavaju različite dijelove svijeta zapravo posljedica selekcije heterozigota za te alele (Dubinin, 1945).



Slika 7. *Drosophila pseudoobscura* M.

(www.biology.fullerton.edu)

T. Dobzhansky i britanski biolog i imunolog Almroth Edward Wright analizirali su 1941. godine letalne alele iz različitih populacija vrste *Drosophila pseudoobscura* M. i zaključili da je diferencijacija tih populacija zajedno s letalnim alelima posljedica spontanogenetičkih procesa. Taj zaključak se temelji na činjenici da su isti letalni aleli pronađeni u različitim populacijama, a nisu imali tendenciju ponavljanja u bilo kojoj od tih populacija.

Godine 1942. Wright, Dobzhansky i američki biolog William Hovanitz dobili su drugačije rezultate. Od 152 letalnih alela, koja su pronašli u različitim populacijama vrste *Drosophila pseudoobscura* M., samo 18 ih se ponavljalo u različitim populacijama. Od 25 letalnih alela koji su pronađeni dva puta unutar iste populacije, njih 7 je pronađeno unutar istog lokusa u populacijama s različitim područjima. Uzrok različitih rezultata bio je taj što su populacije uzete s različitih lokacija, u jednom slučaju su populacije bile izolirane jedne od drugih, a u drugom slučaju nisu (Dubinin, 1945).

VRSTE LETALNIH ALELA

Recesivni letalni geni

Recesivni letalni geni mogu kodirati i za dominantna i za recesivna svojstva, ali oni zapravo ne uzrokuju smrt ako organizam nema dvije kopije letalnih alela. Najpoznatiji primjer je ve spomenuti slu aj s „aurea“ biljkama vrste *Antirrhinum spp.* Primjeri ljudskih bolesti uzrokovanih recesivnim letalnim alelima su cisti na fibroza, srpasta anemija i akondroplazija. Naslje ivanje jednog alela za akondroplaziju može uzrokovati bolest, a naslje ivanje oba alela je letalno.

Dominantni letalni geni

Dominantni letalni geni su prisutni i u homozigotnoj i heterozigotnoj formi, a rijetko se detektiraju jer se naj eš e eliminiraju iz populacija smr u jedinke. Ipak, neki dominantni letalni aleli se prenose s jedne na drugu generaciju, a razlog tome leži u njihovoj zakašnjeloj ekspresiji. Jedan primjer bolesti uzrokovanih dominantnim letalnim alelom je Huntigtonova bolest, neurološka bolest ljudi koja smanjuje životni vijek. Pošto je razvoj te bolesti spor (do reproduktivne zrelosti jedinke), nositelji je mogu prenijeti na svoje potomstvo, što omogu uje alelima da se održe u populaciji.

Uvjetno letalni geni

Geni koji uzrokuju smrt pod odre enim uvjetima zovu se uvjetno letalni geni. Favizam je spolno vezano nasljedno svojstvo uzrokovano takvim genima, a koje rezultira nedostatkom enzima glukoza-6-fosfat dehidrogenaze. Naj eš e se pojavljuje me u ljudima Mediterana, Afrike, Južne Azije i potomaka sefardskih Židova. Bolest je nazvana favizam zbog toga što se srpasta anemija, stanje u kojem crvene krvne stanice propadaju i blokiraju krvne žile (Slika 8.), razvija nakon što osoba, nositelj ovog gena, jede bob (*Vicia faba* L.). Blokiranje krvnih žila uslijed stvaranja ugrušaka može uzrokovati prestanak rada bubrega i rezultirati smr u. Interesantno je da su osobe nositelji alela za favizam rezistentne na malariju zato što je parazitima koji ju uzrokuju teže razmnožavati se u stanicama sa smanjenom koli inom glukoza-6-fosfat dehidrogenaze. Uvjetno letalni geni mogu tako er pokazati letalni u inak u odre enim promijenjenim uvjetima. Primjerice, mutirani protein može biti geneti ki promijenjen da bude potpuno funkcionalan pri 30°C i potpuno nefunkcionalan pri 37°C.



Slika 8. Srpasti eritrociti

(bionet-skola.com)

Me utim, protein divljeg tipa je potpuno funkcionalan pri obje temperature. Stanje u kojem je mutantni fenotip eksprimiran zove se nepermisivno stanje, a stanje u kojem je divlji tip eksprimiran zove se permisivno stanje.

Semiletalni ili subletalni geni

Letalni geni koji uzrokuju smrt samo nekih jedinki u populaciji koje su nositelji ovoga gena zovu se semiletalni ili subletalni geni. Primjer bolesti uzrokovanih takvim genima je hemofilija. To je nasljedna bolest uzrokovana deficitom faktora zgrušavanja, što rezultira nepravilnim zgrušavanjem krvi i koagulacijom. Pošto se alel za hemofiliju prenosi X kromosomom, zaražene jedinke su ve inom muškarci i oni naslje uju alel od svoje majke. Normalno, faktori zgrušavanja pomažu stvaranju privremenog ugruška nakon ozljede krvne žile kako bi pomogli spre avanju krvarenja, no hemofili arima se rane ne mogu normalno izlije iti zbog male koli ine faktora zgrušavanja. To zna i da i normalne male ozljede mogu biti fatalne za jedinke s hemofilijom.

Sinteti ki letalni geni

Istraživa i koji su prou avali vinske mušice primijetili su da neke kombinacije mutantnih alela nisu vijabilne, dok su neke jedinke nositelji istih mutantnih alela preživjele. Drugim rije ima, neke mutacije su letalne samo kada su u kombinaciji s nekim drugim mutacijama. Takvi se geni zovu sinteti ki letalni geni. Npr. ako obje mutacije nastaju u neesencijalnim genima, istraživa i mogu pretpostaviti da ta dva gena sudjeluju u paralelnom putu (sinteze proteina) i dijele informacije jedan s drugim. Svaki od sinteti kih puteva može kompenzirati defekt u onom drugom, ali kada oba sinteti ka puta imaju mutaciju, ta kombinacija završava letalno. Sinteti ka letalnost može tako er ukazivati da dva zahva ena gena imaju istu ulogu, pa se letalnost ispoljava samo kada su obje kopije nefunkcionalne te jedan gen ne može zamijeniti drugi. U skladu s time, oba gena mogu funkcionirati u istom esencijalnom putu, a funkcija sinteti kog puta može biti smanjena mutacijom bilo kojeg gena. Ako mutacija u nekom genu uzrokuje letalnost, to zna i da taj gen ima vrlo važnu funkciju u organizmu. Otkri a mnogih letalnih alela su dala informacije o funkciji gena prilikom razvoja. Prema tome, istraživa i mogu koristiti sinteti ki letalne alele za prou avanje fizioloških funkcija ali i veza izme u gena pod odre enim uvjetima (www.nature.com/scitable/topicpage/mendelian-ratios-and-lethal-genes-557).

U INAK LETALNIH ALELA NA EVOLUCIJSKE PROCESSE

Genotipovi mnogih vrsta životinja u prirodnim populacijama redovito sadrže mnogo letalnih alela. Ta činjenica je već više puta potvrđena za različite vrste vinske mušice kod kojih su pojedine jedinke određene vrste heterozigotne za nekoliko recesivnih letalnih alela (Spencer, 1947). Slična situacija pronađena je i u ljudi (Morton i sur., 1956). Brojna istraživanja letalnih alela provedena su na kućnom mišu (*Mus musculus* L.). Također je otkriveno da su mnoge divlje populacije heterozigotne za letalne alele na jednom lokusu (Bennett i sur., 1959).

Nakupljanje letalnih alela u populaciji je pod utjecajem mutacija koje se javljaju kao posljedica prisutnosti letalnih alela, ali i pod utjecajem mutacija koje mogu uzrokovati sam nastanak letalnih alela. Osim mutacija, u inak na koncentriranje letalnih alela u populacijama ima i prirodna selekcija. Ako su letalni aleli potpuno recesivni, njihova eliminacija je važna samo u homozigota. Situacija se mijenja ako letalni alel pokazuje efekt u heterozigota. Stalna eliminacija letalnih homozigota održava svaki letalni alel na niskoj koncentraciji u populaciji, sprečavajući i nakupljanje iznad određene granice. Ipak, pošto letalni aleli nastaju ponovno u svakoj generaciji zbog spontanih mutacija, postiže se ravnoteža, pa je svaka eliminirana mutacija nadoknađena novom mutacijom. Također je dokazano da je eliminacija letalnih alela u heterozigota desetak puta veća od one u homozigota (Dubinin, 1945).

U vrlo velikim populacijama koje se konstantno razmnožavaju, distribucija letalnih alela je u potpunosti određena mutacijskim pritiskom i negativnom selekcijom. U stvarnosti, situacija je mnogo kompleksnija zato što ciklusi razmnožavanja nameću varijacije u brojnoj snazi i u sistemu razmnožavanja (Dubinin, 1945).

Koncentracije nekih letalnih alela u nekim populacijama dostižu 1, 2 pa čak i 3%. Tako visoke koncentracije letalnih alela mogu biti posljedica visoke stope mutacija u određenom lokusu ili posljedica akumulacije letalnih alela zahvaljujući spontanim genetičkim procesima. Ako je distribucija letalnih alela u populaciji određena mutacijskim pritiskom, tada će distribucija u različitim populacijama pokazivati iste značajke. S druge strane, ako je distribucija letalnih alela uzrokovana izolacijom, migracijom i smanjenjem veličine populacije, onda bi različite populacije trebale pokazivati drugačije rezultate (Dubinin, 1945).

Saznanja o uestalosti letalnih mutantnih alela u populaciji su važna za shvaćanje populacijske genetike i evolucije, i do sada se nekoliko puta pokušalo odrediti njihov broj u divljim populacijama (Halligan i Keightley, 2003).

Mutacije koje pokazuju pozitivan efekt (prilagodba na određene uvjete) su potrebne za adaptivnu evoluciju, ali većina spontanih mutacija ima negativan efekt (što se tiče prilagodbe) u svim vrstama koje su istraživane. Novi mutantni aleli nastaju spontano i, iako su eliminirani iz populacija prirodnom selekcijom, otkriva se da postoji ravnoteža između mutacija i selekcije, u kojoj frekvencija letalnih alela fluktuirala oko ravnoteže (Halligan i Keightley, 2003).

Letalne mutacije bi mogle objasniti mnoga uobičajena fenomena u evolucijskoj biologiji. Primjerice, vjeruje se da su mutacije koje nastaju zbog usrobnosti uzrokovane recesivnim letalnim mutacijama koje postaju homozigotne u potomstvu. Saznanja o frekvenciji i prirodnoj letalnosti alela bi mogla pomoći i predviđanjima mutacija uzrokovanih usrobnostima, koje bi pak mogle imati utjecaj na konzervacijsku genetiku (Halligan i Keightley, 2003).

Unatoč važnosti letalnih mutacija, vrlo je malo procjena broja letalnih alela koji se javljaju u jedinkama divljih populacija. Problem koji se ovdje javlja je činjenica da većina letalnih mutacija ima jako mali ili neprocjenjivi efekt na fitness. Puno je lakše procijeniti uestalost recesivnih mutacija s vrlo jakim homozigotnim efektima. Većina objavljenih procjena broja letalnih alela u divljim populacijama proizlazi iz istraživanja provedenih na različitim vrstama vinske mušice. Glavna metoda za određivanje letalnih gena u genomu vinske mušice uključuje uporabu kromosoma „balancera“ kako bi se testirali letalni aleli u specifičnim kromosomima. Tada je moguće procijeniti broj letalnih alela po jedinki (R). U 18 takvih eksperimenata, većina procjena pokazala je da se R kreće između 0,5 i 3, no potrebne su i vjerodostojne procjene broja letalnih alela u genomima drugih vrsta kako bi se mogli dobiti odgovori na pitanja: da li je R povezan s veličinom genoma ili je pod njegovim utjecajem; da li je R povezan s brojem i duljinom kodirajućih regija, efektivnom veličinom populacije ili nekim drugim demografskim faktorima. Nažalost, postoje malobrojne procjene broja letalnih alela u genomima drugih vrsta. Predloženi R za populacije ljudi je maksimalno 1,4 ekvivalentnih letalnih alela po jedinki, što ukazuje na nizak R . Ipak, podaci su nepouzdana jer je vrlo teško odrediti efekte recesivnih letalnih alela koji se manifestiraju prije rođenja u ljudi (Halligan i Keightley, 2003).

Mnoge vrste riba i vodozemaca imaju vanjsku oplodnju, što je izvrsna prilika za procjenjivanje smrtnosti nakon usrobnosti: bilo koji majinski efekti bi trebali biti zanemarivi, s obzirom da se jaja ne razvijaju unutar majke. Vodozemci i ribe također stvaraju

velik broj potomaka, te tako omogućavaju testiranje o ekvivalenciji Mendelovih omjera, pa se i potomstvo koje se ne uspije razviti lako može izbrojati. Teoretska vrijednost $R=1,6$ određena je za vrstu *Ambystoma mexicanum* (Slika 9.), iako nije bilo moguće potvrditi tu vrijednost iz originalnih dokumenata. Visoka vrijednost R je utvrđena i za *Cassostrea gigas* (Slika 10.), iako je bilo predloženo da je odmak od Mendelovih omjera moguć i zbog nekih drugih faktora osim letalnih alela prisutnih u genomu te vrste (Halligan i Keightley, 2003).



Slika 9. *Ambystoma mexicanum*

(www.qiaodahai.com)



Slika 10. *Cassostrea gigas*

(www.dabramonicola.it/prodotti.php)

Učinak letalnih alela u pojedinim vrstama

Letalni aleli u vinske mušice (*Drosophila melanogaster* M.)

Provedeni eksperimenti na različitim vrstama vinskih mušica su pokazali da je distribucija letalnih alela u različitim populacijama različito izražena (Dubinin, 1945). Razumljivo je da je stopa mutacija različita u različitim populacijama, no poznato je i da su te stope vrlo slične u svim proučavanim populacijama. Važan podatak dobiven je proučavanjem populacije iz grada Gelendzhika (Rusija), u kojoj su letalni aleli analizirani oko dvije godine. Prosjek intrapopulacijskih križanja je bio dosta veći od prosjeka interpopulacijskih križanja, što govori da su važnu ulogu u distribuciji letalnih alela imali spontani genetički procesi. No unatoč tome, neki letalni aleli se ponavljaju u različitim populacijama što ukazuje na važnu ulogu mutacijskog pritiska. Letalni aleli na neki način u različitim populacijama također pokazuju tendenciju ponavljanja unutar tih populacija. Primjerice, pronađeno je 6 letalnih alela zajedničkih dvjema geografski vrlo udaljenim populacijama, što navodi na zaključak da ti aleli nemaju zajedničkog pretka (Dubinin i Volotov, 1941). Ako neki lokusi koji stvaraju letalne alele imaju veću stopu mutacija od drugih, možemo o ekvivalenti visoku frekvenciju alelizma (veći broj alela na jednom lokusu) u križanjima izmjeriti u letalnih alela koji se

ponavljaju u populacijama u usporedbi s letalnim alelima koji su nasumično odabrani. Neki visoko mutageni lokusi uzrokuju porast letalnih alela na enih u populacijama. Sli nosti mutanata u prirodno odvojenim populacijama su posljedica sli nosti mutacijskih procesa u tim populacijama. Spontani geneti ki procesi su glavni razlog diferencijacije populacija s obzirom na gene koji nemaju jasnu selekcijsku ja inu.

Letalni aleli u ku nog miša (*Mus musculus* L.)

Letalni aleli identificirani u razli itim populacijama ku nog miša (Slika 11.) se mogu podijeliti u dvije osnovne grupe izme u kojih nisu otkrivene nikakve razlike na temelju geneti kih ili embrionalnih kriterija.



Slika 11. *Mus musculus* L.

(www.php.med.unsw.edu.au)

U jednom istraživanju izolirano je osam populacija na sjeveru, jugu i zapadu SAD-a (Bennett i sur., 1959). Kako se činilo da isti alel ne bi mogao biti prona en u svih osam razli itih regija, teško je bilo i za pretpostavit da se jedan alel proširio po cijeloj državi, iako bi to teoretski bilo mogu e zbog antropogenog utjecaja. Prona eni su isti aleli u tri odvojene populacije, pa se postavilo logi no pitanje kako objasniti geografsku odvojenost životinja koje ih nose. Te životinje bi mogle predstavljati potomke mutacije koja se pojavila u populaciji zajedni koj svima trima populacijama. U tom slu aju bi najvjerojatniji razlog raspršenja bio transport životinja koji je u inio ovjek. S druge strane, aleli bi mogli nastati kao neovisne mutacije. Ova druga pretpostavka zahtjeva analizu u estalosti nastanka identit nih mutacija, no poznato je da je ta mogu nost vrlo mala. Naime, malo je vjerojatno da e visoko mutabilni lokus u mnogo populacija imati identit nu letalnu mutaciju.

Letalni aleli u riba (*Lucania goodei* G. i *Danio rerio* H.)

Recentno istraživanje dovelo je do neo ekivano malog broja letalnih alela u populacijama dviju vrsta riba (*Lucania goodei* G. i *Danio rerio* H., Slika 12. i Slika 13.). Pretpostavlja se da potomstvo nastalo križanjima izme u srodnih jedinki ima o ekivano manje vijabilnog potomstva nego ono nastalo križanjem nesrodnih jedinki, ako srodne jedinke dijele recesivne letalne alele (Halligan i Keightley, 2003).



Slika 12. *Lucania goodei* G.

(www.nas.er.usgs.gov)



Slika 13. *Danio rerio* H.

(www.forum.aleksinac.net)

Križani su divlji tipovi roditelja, te je nadalje križano i njihovo potomstvo. U 25% križanja recesivni letalni aleli bi se razotkrili kao morfološki mutanti u o ekivanom Mendelovom omjeru. Broj recesivnih letalnih alela u obje vrste ($R = 1.87$ za *L. goodei* i $R = 1.43$ za *D. rerio*) je potpuno jednak onom u *Xenopus laevis* D. (Slika 14.), koji iznosi 1,875, te je otprilike sredina vrijednosti za vinske mušice ($R = 0,5-3$). Ta sli nost vinske mušice i kralježnjaka je iznena uju a, pošto je genom vinske mušice puno manji i ima manje gena nego kralježnjaci (Halligan i Keightley, 2003).



Slika 14. *Xenopus laevis* D.

(www.iacuc.arizona.edu)

Nadalje, izgleda da je broj letalnih mutacija koji nastaje u kodirajućoj regiji gena u pozitivnoj korelaciji s generacijskim vremenom vrste, koje je u vinske mušice puno kraće nego u riba. Na temelju svih tih činjenica o ekvivalenciji broja letalnih alela u kralježnjaka. Negativna selekcija heterozigota potencijalno vrijedi za negativnu selekciju letalnih alela, zato što oni u prosjeku nisu potpuno recesivni u vinskoj mušici. Nadalje, s nekompletnom recesivnošću, efektivna veličina populacije i u inak uskog grla („bottleneck“ efekt) u prošlosti su mogli imati veliku ulogu u određivanju učestalosti letalnih alela. Svejedno, ne postoje još dokazi koji bi ukazivali da je ta selekcija jaka u kralježnjaka. Jedno od mogućih objašnjenja je viša razina usrođenosti u populacijama kralježnjaka, što može rezultirati povećanom eliminacijom recesivnih letalnih alela iz populacija. Ako bi kralježnjaci imali isti broj letalnih alela kao i vinska mušica, tada bi mogli očekivati da će imati i istu količinu mutacija koje su nastale kao rezultat križanja među srodnicima. Ipak, povezanost između više manjih i inak mutacija i usrođenosti u kralježnjaka je još uvijek nepoznata. Struktura populacije mijenja se tijekom evolucije te je moguće i da je nekada u prošlosti populacije usrođenost imala veću važnost pri čemu su se eliminirale mutacije i tako se njihov broj smanjio do današnjih dana. Nažalost, zbog nedostatka podataka o genetici koje strukturi populacija u sadašnjosti i prošlosti teško je provjeriti navedene hipoteze (Halligan i Keightley, 2003).

Povezanost letalnih alela s pojedinim kromosomima i mutacijama

Letalni aleli vezani za spolne kromosome

Američki genetičar Hermann Joseph Muller (1890.–1967., Slika 15.) prvi je na vinskoj mušici (*Drosophila spp.*) pokušao objasniti inaktivaciju Y kromosoma uzrokovanu letalnim alelima. Tvrdio je da su genski lokusi na Y kromosomu uvijek heterozigotni, pa bilo koja letalna mutacija koja se javlja na tim lokusima može biti prigušena divljim tipom alela na homolognom lokusu X kromosoma. Letalne mutacije na X kromosomu su eliminirane u homogametskom spolu. Također je mislio da akumulacija letalnih gena može nastati samo na Y kromosomu (Nei, 1970).



Slika 15. Hermann Joseph Muller

(www.sandwalk.blogspot.com)

Kasnije je engleski biolog Ronald Aylmer Fisher (Slika 16.) istražio vjerojatnost akumulacije letalnih gena na Y kromosomu u velikim populacijama vinske mušice (*Drosophila spp.*) i pokazao da je ta vjerojatnost vrlo mala. Time je odbacio Mullerovu hipotezu. Kasnije (1968.) su Oswaldo Frota Pessoa, brazilski biolog, i Lydia Rosenberg Aratangy proučavali ravnotežnu učestalost letalnih gena na Y kromosomu i uvidjeli da je ona vrlo povećana pri parenju blisko srodnih jedinki kao posljedica uzastopnog sparivanja. No nisu pokazali da na Y kromosomu može stvarno doći do fiksacije letalnih gena (Nei, 1970).



Slika 16. Ronald Aylmer Fisher

Raznim kasnijim istraživanjima gena na Y i X kromosomima, (www.adelaide.edu.au) došlo se do zaključka da je većina letalnih mutacija zapravo uzrokovana pomakom u okviru citiranja ili besmislenim mutacijama, a i pogrešne mutacije mogu imati letalni efekt ako se dogode u onim tripletima u DNA koji kodiraju za aminokiseline koje se nalaze u aktivnim mjestima proteina. Kada postoji rekombinacija između Y i X kromosoma, letalni geni akumulirani na Y kromosomu mogu biti zamijenjeni normalnim genima s X kromosoma. To sprečava kompletnu fiksaciju letalnih gena na Y kromosomu, čak i ako ne postoje povratne mutacije. U pravilu bilo koji kromosom s recesivnim genom (za određenu osobinu) koji se križa s homolognim kromosomom s dominantnim genom (za tu istu osobinu) ima malu vjerojatnost akumulacije letalnih gena, osim na lokusima koji su vrlo povezani s genima koji određuju spol. U nekim vrstama nema Y kromosoma, pa su mužjaci XO, a ženke XX, no to ne znači da su svi geni locirani na Y kromosomu postali nefunkcionalni prije gubitka Y kromosoma. Geni koji određuju spol zapravo nikada ne postaju nefunkcionalni. Vjerojatnije je da je u tih vrsta došlo do prijenosa gena (koji određuju spol) na jedan ili više autosomalnih kromosoma translokacijama prije nego se ostatak Y kromosoma izgubio (Nei, 1970).

U ljudi je otkriveno nekoliko bolesti koje uzrokuju letalni geni vezani za X kromosom (Migeon i sur., 1989). Kod tih bolesti umiru hemizigotni muškarci, dok su heterozigotne žene koje imaju taj isti mutirani alel manje pogođene. Naime, u žena zbog inaktivacije jednog od X kromosoma postoji populacija stanica koje ekspimiraju normalni alel na tom lokusu. Mozaicizam takve vrste mogao bi smanjiti smrtni efekt tih mutacija, ako bi se mutirane stanice eliminirale kao rezultat proliferativne zapreke. Primjer takve bolesti je „*incontinentia pigmenti*“. Radi se o poremećaju pigmentacije kože popraćenom anomalijama u rastu kose, zubi, oči i središnjeg živčanog sustava, te različitim razinama mentalne retardacije u nekim

jedinki. U muškaraca bolest uglavnom završava smrću, a u žena obično nema hendikepa. Pošto je bolest vezana za X kromosom, prenosi se na potomke.

U istraživanju provedenom na pet heterozigotnih ženskih osoba iz triju obitelji, unutar kojih je otkrivena bolest „*incontinentia pigmenti*“, primijećeno je da su stanice, nositeljice mutacije, eliminirane iz kulture kožnog fibroblasta te u određenom stupnju i iz hematopoetskog tkiva (Harris i sur., 1992). Ovakav rezultat potvrđuje povezanost te mutacije s X kromosomom te ukazuje na to da negativna selekcija stanica koje eksprimiraju mutacije letalne za muškarce može imati pozitivni učinak na fenotip žena koje ih nose. No, selekcija se ne odlikuje uvijek za divlji tip alela pošto ponekad mutacija ima pozitivni učinak na proliferaciju stanice. Efekt selekcije je najuočljiviji u hematopoetskim tkivima jer je to tkivo u kojem stanice brzo nastaju. Uočeno je i da žene u kojima stanicama je inaktiviran normalni X kromosom, a aktivan onaj s mutacijom, pokazuju veću mentalnu retardaciju od većine heterozigota. Analize mozaičnih fenotipova u heterozigota bi mogle dati novi uvid u prirodu bolesti povezanih s X kromosomom.

Povezanost letalnih alela s inverzijama

Različita istraživanja pokazala su da je učestalost letalnih gena na drugom kromosomu u prirodnim populacijama vinske mušice u Japanu drastično porasla: čak s 15 na 30 % u populacijama Katsunuma i s 10 na 20 % u populacijama Hiroshime (Watanabe i Yamazaki, 1975). Također je pokazano da je taj porast u populacijama Katsunume popraćen padom polimorfnih inverzija na istom kromosomu. Dokazano je da su naizgled neovisni fenomeni ipak povezani, vjerojatno zbog nejednolike raspodjele letalnih alela po cijelom kromosomu (gušće su locirani na regiji normalnih, nemutiranih gena nego na inverznoj regiji gena). Prema tome, kromosom s inverzijom ima manje letalnih gena nego kromosom bez inverzije. To je u skladu s negativnom korelacijom između učestalosti letalnih alela i polimorfnih inverzija, pošto smanjenje učestalosti inverzija uzrokuje porast učestalosti letalnih alela, i obrnuto. Ostaje neodgovoreno pitanje zašto inverzni kromosomi imaju manje letalnih gena nego normalni kromosomi. Uvriježeno je mišljenje da su polimorfne inverzije produkti prirodne selekcije i da su usklađene uzduž invertnog kromosoma. Da je to točno pokazuje činjenica da su polimorfne inverzije stabilne i dugovječne unutar populacija. U skladu s time može se očekivati da će nastanak novih mutacija unutar polimorfnih inverzija biti štetniji za nositelja (pošto će narušiti usklađenost uzduž invertnog kromosoma) nego nastanak mutacija izvan

invertnih regija. Također, otkriva se da se mutacije unutar inverzija brže eliminiraju iz populacija. Sve gore navedeno podupire hipotezu da su polimorfne inverzije zapravo dobre za genske komplekse u kojima i da nove mutacije unutar tih regija narušavaju sklad gena više nego što narušavaju sklad normalnih raspodjela gena. Prema tome, letalni geni u inverznoj regiji kromosoma su odabrani kako bi se brzo eliminirali, pa preživjele inverzije imaju manje letalnih gena.

ZAKLJUČAK

Letalni aleli uzrokuju promjene u genomu organizma, a koje imaju u inak dovoljno jak da uzrokuje smrt jedinke. Vrlo često letalni aleli uzrokuju smrt jedinke prije njezine reproduktivne zrelosti, pa su stoga eliminirani iz populacije u istoj generaciji u kojoj su i nastali. U prošlosti su veliku ulogu u određivanju učestalosti letalnih alela imali efektivna veličina populacije i u inak uskog grla, no nedostaju eksperimentalni dokazi koji bi objasnili te fenomene pošto je vrlo teško proučavati bilo kakve evolucijske procese u nedostatku podataka o genetici i strukturi populacija u sadašnjosti i prošlosti.

Iako se možda čini da bi letalni aleli trebali imati najmanje utjecaja na evoluciju, pošto su najčešće eliminirani prirodnom selekcijom, oni su ipak vrlo značajni za proučavanje genetike strukture populacija. Oni su dio prirodne selekcije i nikako ih se ne smije zanemariti u proučavanju evolucije živoga svijeta.

LITERATURA

Bennett, D., Dunn, L. C., Badenhause, S. (1959) A second group of similar lethals in populations of wild house mice. *Genetics*, 44, 795-802.

Dubin, N. P. (1945) On lethal mutations in natural populations. *Genetics*, 31, 21-38.

Dubin, N. P., Volotov, E. N. (1941) *Zhurn. Obshchei Biol.*, 1, 205-233.

Halligan, D. L., Keightley, P. D. (2003) How many lethal alleles. *Trends in Genetics*, 19, 57-59.

Harris, A., Collins, J., Vetrie, D., Cole, C., Bobrow, M. (1992) X inactivation as a mechanism of selection against lethal alleles: further investigation of incontinentia pigmenti and X linked lymphoproliferative disease. *Journal of Medical Genetics*, 29, 608-614.

Migeon, R. B., Axelman, J., Jan de Beur, S., Valle, D., Mitchell, G. A., Rosenbaum, K. N. (1989) Selection against lethal alleles in females heterozygous for incontinentia pigmenti. *American Journal of Human Genetics*, 44, 100-106.

Morton, N. E., Crow, J. F., Muller, H. J. (1956) An estimate of the mutational damage in man from data on consanguineous marriages. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 42, 855-863.

Nei, M. (1970) Accumulation of nonfunctional genes on sheltered chromosomes. *The American Naturalist*, 104, 311-322.

Spencer, W. W., (1947) Mutations in wild populations of *Drosophila*. *Advances in Genet.*, 1, 359-402.

Watanabe, T. K., Yamazaki, T. (1975) Evidence for coadaptation: negative correlation between lethal genes and polymorphic inversions in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 82, 697-702.

www.adelaide.edu.au

www.biology.fullerton.edu

www.bionet-skola.com

www.commonswikimedia.org

www.dabramonicola.it/prodotti.php

www.forum.aleksinac.net

www.google.hr/images

www.iacuc.arizona.edu

www.mpiz-koeln.mpg.de

www.nas.er.usgs.gov

www.nature.com

www.nature.com/scitable/topicpage/mendelian-ratios-and-lethal-genes-557.

www.nceas.ucsb.edu

www.php.med.unsw.edu.au

www.qiaodahai.com

www.sandwalk.blogspot.com

SAŽETAK

Letalni aleli uzrokuju smrt organizma koji ih nosi, no ponekad smrt nije trenutna - mogu proći i godine prije nego smrt nastupi, ovisno o utjecaju letalnog gena na organizam odnosno njegovoj funkciji. Ako mutacija završava trenutnom smrću, tada je zahvaćeni gen esencijalan za rast, razvoj i preživljavanje organizma. Prvi koji je primijetio letalne alele 1905. godine bio je Lucien Cuénot, a nakon njega su mnogi istraživači započeli rad u tom području. Letalni aleli ne izazivaju smrt uvijek u istim uvjetima, pa stoga postoji nekoliko vrsta letalnih alela (dominantni, recesivni, subletalni, uvjetni i sintetički letalni aleli).

Najopsežnija istraživanja broja i uinka letalnih alela su napravljena u prirodnim populacijama vrsta *Drosophila melanogaster* M. i *Mus musculus* L., te u novije vrijeme u vrsta riba *Lucania goodei* G. i *Danio rerio* H. Usporedbama rezultata dobivenih na tim vrstama dobivene su bitne činjenice o evoluciji letalnih alela, no još je uvijek vrlo teško sa sigurnošću zaključiti što sve utječe na njihovu distribuciju u različitim populacijama. Otkriven je i uink inak nekih letalnih alela na spolne kromosome koji uzrokuju brojne bolesti i mutacije.

Saznanja o uinkalosti letalnih alela u populaciji su važna za razumijevanje populacijske genetike i evolucije. Letalne mutacije mogu objasniti mnoge fenomene u evolucijskoj biologiji, poput usroćenosti i njezinog utjecaja na populacije, ili pak uzroka nekih nasljednih bolesti koje imaju letalan uink inak, a povezane su s letalnim alelima. Stoga je vrlo važno nastaviti s istraživanjem letalnih alela kako bi se eventualno otkrio njihov utjecaj na razvoj i život jedinki.

SUMMARY

Lethal alleles cause the death of an organism that carry them, but sometimes, death is not immediate - it may take years before death occurs, depending on the function of a lethal gene and its impact on an organism. If the mutation results in lethality then the affected gene is essential for growth, development, and survival of an organism. Lucien Cuénot was the first researcher who noticed the effects of lethal genes on mice in 1905, thereafter many researchers started to explore lethal genes. There are several types of lethal alleles due to the

fact that they cause death under the different conditions (dominant, recessive, sublethal, conditionally lethal and synthetic lethal alleles).

The most abundant research of the number and the effect of lethal alleles was done on *Drosophila melanogaster* M. and *Mus musculus* L., as well as on fish species *Lucania goodei* G. and *Danio rerio* H. Comparisons of the data obtained on the different species have provided important conceptions about evolution of lethal alleles, nevertheless the mechanisms of their distribution in different wild populations are still vaguely understood. Effect of some lethal alleles on sex chromosomes, which causes numerous diseases and mutations, was also discovered.

Informations about the frequency of lethal alleles in populations are important for understanding population genetics and evolution. Lethal mutations could explain a number of phenomena in evolutionary biology, such as inbreeding and its effect on populations. Also, determination of frequency of lethal alleles would enable certain lethal alleles to be correlated with some common hereditary diseases which have a lethal effect. It is therefore very important to continue researching in the area of lethal alleles, in order to get a better insight in their impact on development and life of organisms.